

(Aus dem MAX-PLANCK-Institut für Züchtungsforschung, Institut für Bastfaserforschung Niedermarsberg)

Über die Meiosis bei *Linum usitatissimum* L.

Von HELLMUT PIRSON

Mit 13 Textabbildungen

Die Gattung *Linum* ist bisher cytologisch relativ wenig untersucht. Lediglich die Frage nach der Chromosomenzahl hat mehrere Veröffentlichungen hervorgerufen. Über das Verhalten der Chromosomen in der Meiosis wird von SIMONET (1929) und INOUE (1938) angegeben, daß die Chromosomenverteilung in der Anaphase normal und ohne Störung abläuft. Das ist auch nach eigenen Beobachtungen der Fall. Andererseits geben RICHHARIA und KALAMKAR (1939) gewisse Unregelmäßigkeiten in der Meiosis an, nämlich daß sich, verursacht durch das Vorhandensein von Homologien, Bivalente in der Metaphase sekundär assoziieren. Die „secondary association“ gilt seit LAWRENCE (1931) als Kriterium für Polyploidie, und früher schon (DARLINGTON 1927) wurden die in der

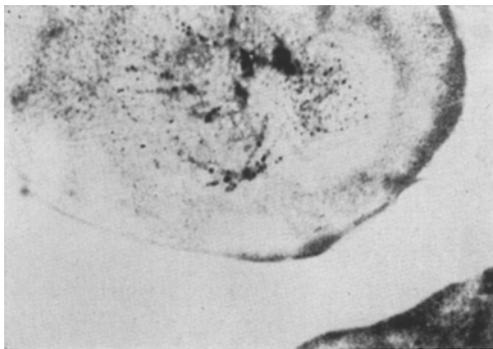


Abb. 1. Beginnende Viererpaarung in der Pollenmutterzelle von *Linum usitatissimum*. 1 Chromosom liegt außerhalb der Bildebene. Phako. 2400 \times .

Natur vorkommenden Arten mit sekundärer Assoziation als sekundäre Polyploide bezeichnet. Zu diesen wird auch *Linum usitatissimum* gerechnet. RICHHARIA und KALAMKAR bezeichnen den Lein als „sekundär ausgeglichene Polyploide“ (s. SCHILLING 1944), wobei der Ausgleich cytologisch zu verstehen ist; das heißt, daß die Meiosis keine größeren Unregelmäßigkeiten in der Chromosomenverteilung zeigt, wie sie bei künstlichen Polyploiden vorkommen, weil die Chromosomensätze der Ausgangsformen ihre anfänglich vorhandenen Homologien nach und nach verloren haben. Die Polyploidnatur scheint dadurch bestätigt, daß innerhalb der Gattung *Linum* bezüglich der Chromosomenzahl zwei hauptsächliche Gruppen vorkommen, die eine Gruppe mit $n = 8$ und 9, die andere mit $n = 15$ und 16 (s. DARLINGTON und JANAKI 1945), zu der auch *L. usitatissimum* gehört und die man sich phylogenetisch aus der Gruppe mit geringerer Chromosomenzahl durch einen Polyploidisierungsschritt entstanden vorstellt. Nun ist die sekundäre Assoziation in Prometa- und Metaphase ein umstrittenes Kriterium, vor allem, weil zu leicht fehlerhafte Präparation der PMZ diese Erscheinung vortäuschen kann (TISCHLER 1951). Außerdem wurde sie in jüngster Zeit an verschiedenen Objekten nicht bestätigt (GOTTSCHALK 1954, NEVES 1953) oder an

Polyploiden nicht beobachtet (REESE 1954). So schien eine Untersuchung auch der früheren Stadien der Meiosis nötig, um festzustellen, ob tatsächlich Homologien zwischen mehr als zwei Chromosomen vorhanden sind, d. h. ob sie sich im Paarungsverhalten bemerkbar machen.

Material und Methodik

Als Material diente in der Hauptsache ein Ölleinstamm (St. 65) wegen seines relativ reichen Knospenansatzes und seiner für Leinverhältnisse großen Chromosomen. Das Meioseverhalten bei anderen Stämmen (Sorauer Feinflachs, Eckendorfer Frühflachs) scheint im Prinzip gleich zu sein. Die Antheren wurden in Alkohol-Eisessig (3:1) fixiert und nach der üblichen Quetschmethode teils mit Orcein-Essigsäure, teils mit Karmin-Essigsäure gefärbt. K.-E. liefert besonders für die frühen Stadien der Meiosis nach unseren Erfahrungen bessere Bilder als O.-E., obwohl im allgemeinen das Plasma stärker angefärbt wird und Einschlußpräparate rascher nachdunkeln. Die Zeichnungen wurden nach dem Präparat mit Hilfe des Winkel-Zeißschen Zeichenapparates angefertigt. Für die Mikrophotographien wurde zur Erhöhung der Rand-schärfe und des Kontrastes zum Teil Phasenkontrast verwendet (unter den Abb. mit Phako bezeichnet).

Der Ablauf der Meiosis

Die frühesten Stadien der Meiosis sind infolge der Kleinheit der Chromosomen und deren schlechter Anfärbbarkeit kaum zu analysieren. In einzelnen Präparaten konnte der Paarungsvorgang beobachtet werden. Er beginnt an den heterochromatischen Mittelstücken, die euchromatischen Enden folgen nach (Abb. 1). *L. usitatissimum* verhält sich also wie *Antirrhinum majus* (STRAUB 1939). Gleichzeitig oder unmittelbar nach der Paarung zu Bivalenten treten die Mittelstücke von 2 gepaarten Bivalenten zusammen, so daß ein Quadrivalent aus vier parallel liegenden Chromosomen bzw. aus 8 Chromatiden vorliegt. Der gleiche Assoziationsmodus wurde bei tetraploider *Impatiens Balsamina* gefunden (BOLLE und STRAUB 1942). Die Assoziation der Bivalente ist meist lockerer als die Paarung der Chromosomen innerhalb eines Bivalents. Sie erfolgt auch nicht immer über die ganze Länge der Chromosomen. Partnerwechsel konnte bisher im Pachytän nicht beobachtet werden.

Im frühen Diplotän bleiben die assoziierten Bivalente zunächst noch nebeneinander liegen (Abb. 2). Eine Längsspaltung in 8 Chromatiden kann zu diesem Zeitpunkt sichtbar werden. Mit dem Einsetzen der Repulsionskräfte rücken die Bivalente etwas auseinander (Abb. 3). Bis in die beginnende Diakinese kann die Assoziation andauern (Abb. 4, 5 u. 6). Die Chromosomen sind bereits deutlich längsgespalten. Die Bivalente liegen hier als zwei parallele Ringe nebeneinander, die Endbindungen decken sich. Die übrigen, nicht an einer Quadrivalentbildung beteiligten Paare liegen einzeln und in wesentlich größeren Abständen voneinander. Wenn das Endstadium der Diakinese erreicht ist, sind gewöhnlich die ursprünglich assoziierten Paare auseinander gerückt und man sieht dann

die für die Diakinese bekannte gleichmäßige Verteilung über den zur Verfügung stehenden Raum. In der anschließenden Prometaphase, wo eine erneute Annäherung der Paare zur Äquatorialplatte hin erfolgt, konnte keine „secondary association“ im Sinne von LAWRENCE, d. h. eine bevorzugte Annäherung



Abb. 2. Zwei an den Mittelabschnitten assoziierte Bivalente im Diplotän

denen das rechte untere in sich ringförmig ist; bei dem linken ist die untere Endbindung ausgefallen, es besteht aber eine Verbindung zwischen dessen rechtem Chromosom und der linken Endbindung des anderen

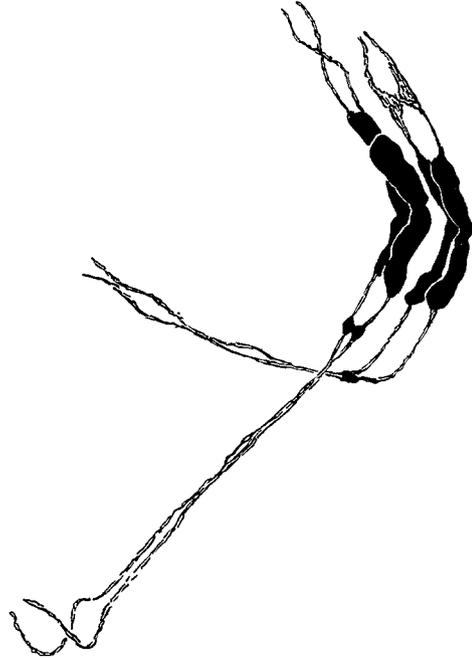


Abb. 3. Diplotän-Diakinese. Locker assoziiertes Quadrivalent. Die unteren Endabschnitte liegen nicht parallel

der als homolog zu betrachtenden Bivalente, festgestellt werden. Die diesbezügliche Angabe von RICHHARIA und KALAMKAR (1939) läßt sich nicht bestätigen, ebensowenig wie das von ihnen beschriebene Auftreten von Nucleolarfragmenten. In der Metaphase liegen alle Bivalente so dicht beisammen, daß die Beurteilung einer sekundären Assoziation ohnehin

Bivalents. An der Brücke sind nur die noch wenig kontrahierten euchromatischen Endabschnitte beteiligt. Diese Konfiguration wurde mehrfach gefunden (Abb. 8). In Abb. 9 sind zwei ringförmige Bivalente durch eine Brücke miteinander verbunden. Diese Bindungsart liegt am häufigsten vor. Mit den beiden beschriebenen Fällen sind die möglichen Arten

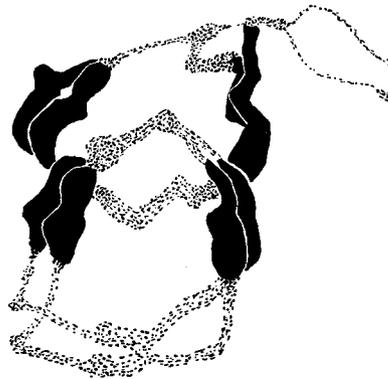
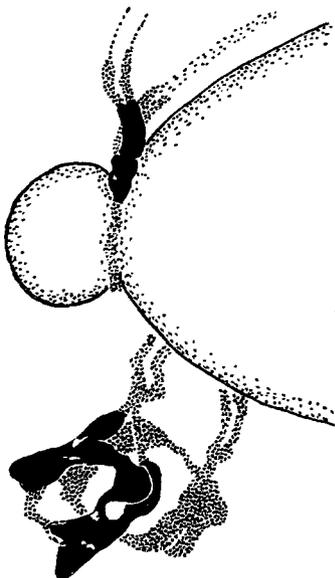


Abb. 4—6. Beginnende Auflösung der Viererpaarung in der frühen Diakinese
Abb. 4 mit Nucleolenchromosom

problematisch wird. Die Chromosomenverteilung in der Anaphase erfolgt ohne Unregelmäßigkeiten.

In der Diakinese, in deren Verlauf die Assoziations-tendenz im allgemeinen nachläßt, bleiben in einigen Fällen die Bivalente assoziiert, und zwar dann, wenn interbivalente Bindungen vorhanden sind. Abb. 7 zeigt ein einzelnes ringförmiges Bivalent mit seinen beiden Endbindungen, daneben zwei Bivalente, von

der interbivalenten Brücken noch nicht erschöpft; so kommen 4 Chromosomen in einer Kette und 2 Ringbivalente mit doppelter Verbindung vor. Um ein vollständiges Bild der Bindungsarten zu bekommen, ist die Untersuchung eines wesentlich größeren Materials erforderlich.

Vorläufig läßt sich noch keine sichere Aussage darüber machen, wieviele Quadrivalente pro PMZ.

gebildet werden und ob die Zahl der Quadrivalente innerhalb einer PMZ. konstant ist. Denn die Entscheidung, ob es sich im einzelnen Fall um ein locker assoziiertes Quadrivalent, um zufällig beieinander liegende Bivalente oder um solche, die ohne Homologien zu besitzen durch interlocking verbunden sind, läßt sich in Diplotän oder früher Diakinese nicht immer treffen. Jedoch deuten einige Beobachtungen darauf hin, daß mehr als ein Quadrivalent pro PMZ., mindestens zwei, gebildet werden können. Eine morphologische Identifizierung der Chromosomen, die an Quadrivalentbildung beteiligt sind, war bisher nicht möglich.



Abb. 7. Quadrivalent in der frühen Diakinese, durch Partnerwechsel verbunden. Links oben ein einzelnes Bivalent

Diskussion

Wenn Homologien zwischen mehr als zwei Chromosomen vorhanden sind, so müssen sie sich schon früher als in der Prometa- und Metaphase zeigen, eben im Pachytän, wo die Homologie sich in dem Paarungsgeschehen manifestiert. Die Assoziation zu Quadrivalenten setzt offenbar gleichzeitig mit der Zweierpaarung ein und zwar zuerst und am stärksten an den Mittelabschnitten als Folge von zusätzlichen, durch die einfache Paarung noch nicht ganz abgesättigten Paarungskräften. Sie ist deshalb relativ locker, besonders an den euchromatischen Endabschnitten. Die auf solche Weise assoziierten Bivalente rücken während der Diakinese ohne eine Komplikation auseinander. Anders ist es, wenn ein interbivalenter Partnerwechsel an den Endabschnitten erfolgt ist. Dann bleiben die Bivalente, durch Chromatinbrücken verbunden, bis in die Diakinese hinein zusammen. Bei Paarungswechsel zwischen ganzen Chromosomen würde ein ringförmiges oder kettenförmiges Quadrivalent entstehen, das bis in die Metaphase hinein erhalten bliebe. Das ist bisher noch nicht beobachtet

worden. Findet der Partnerwechsel aber nur zwischen einzelnen Chromatiden statt, wobei sie sich umschlingen, dann ist eine lockere Brückenbildung zwischen Ringbivalenten, die sich früher als die normalen Endbindungen auflöst, erklärlich. Eine Folge des Partnerwechsels ist das gehäufte Ausfallen der normalen Doppelbindungen, und zwar entweder der ganzen Doppelbindung an einem Ende des einen oder beider Bivalente (Abb. 7 und 8) oder nur der Bindung zwischen 2 Chromatiden, wobei die der Schwesterchromatiden die Ringform des Bivalents aufrecht zu erhalten vermag (Abb. 9). Im einzelnen scheinen sich die Verhältnisse noch zu komplizieren. Doppelte Ver-

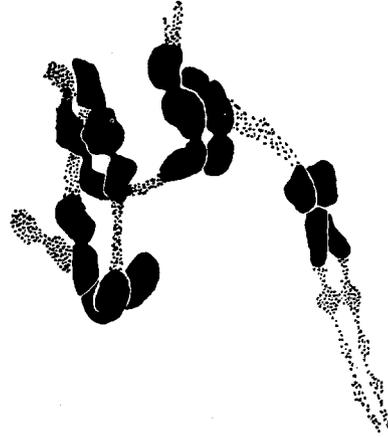


Abb. 8. Ähnliche Konfiguration wie in Abb. 7, die Chromosomen liegen parallel

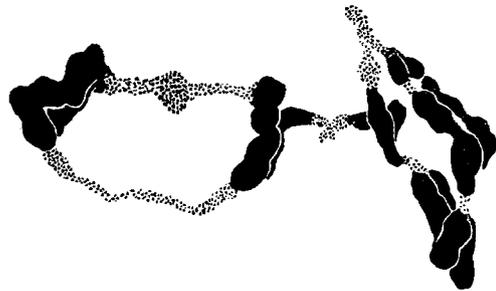


Abb. 9. Zwei Ringbivalente, durch Partnerwechselbrücke verbunden

bindung zwischen 2 Ringbivalenten kann Folge von doppeltem Partnerwechsel sein. Man muß solche Fälle aber gut von denen des interlocking unterscheiden (Abb. 10), wobei die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen ist, daß die Chancen des interlocking infolge der Homologie und der dadurch bedingten räumlich näheren Lagerung der sich einhängenden Partner vermehrt werden.

In der Metaphase sind interbivalente Bindungen bisher nicht beobachtet worden. Die Brücken werden in der Diakinese aufgelöst. Ebenso scheinen die interlockings durch frühzeitiges Zerreißen nicht bis in die Metaphase hinein erhalten zu bleiben. Dementsprechend finden sich in Metaphaseplatten Bivalente mit Bindungsausfall an einem Ende häufig (Abb. 11). Ihre Anzahl kann indessen nicht als Maßstab für stattgehabten Partnerwechsel oder interlocking gewertet werden.

In stark gespreiteten Metaphaseplatten findet man zuweilen paarweise nebeneinander liegende Bivalente, zwischen denen aber keine Bindungen zu sehen sind. Diese Bilder können den Eindruck einer secondary

association erwecken. Man muß aber bedenken, daß ursprünglich ja alle Bivalente so nahe beieinander lagen. Es handelt sich hier wahrscheinlich um einen rein zufälligen mechanischen Effekt beim ungleichmäßigen Quetschen der PMZ. Er tritt besonders dann auf, wenn die PMZ. senkrecht zur Spindelachse oder etwas schräg dazu gequetscht wird. Auf ähnliche Weise könnten auch die Bilder der sekundären Assoziation in der Metaphase I, die RICHHARIA und KALAMKAR (1939) geben, entstanden sein.

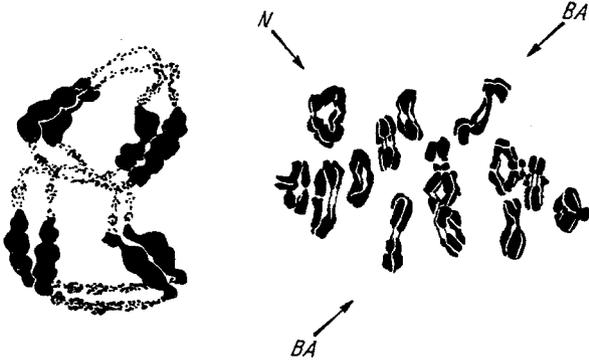


Abb. 10. Zwei durch interlocking verbundene Bivalente der Diakinese

Abb. 11. Bivalente der Metaphase I, seitlich. BA = Bindungsausfall an einem Ende. N = Nucleolenchromosom

Quadrivalentbildung und Basiszahl

Nach dem Verhalten der Chromosomen im Pachytän kann *Linum usitatissimum* als sekundäre Polyploide im Sinne von DARLINGTON bezeichnet werden; dies wird dadurch bestätigt, daß *Linum grandiflorum* var. *rubrum* aus der Artengruppe geringer Chromosomenzahl ($n = 8$) nach eigenen Untersuchungen im Pachytän keine Quadrivalente bildet. Die Homologien zwischen den Chromosomensätzen sind bei *L. usitatissimum* nicht sehr ausgeprägt. Über die Art und Weise, wie sich die Polyploidisierung vollzogen hat, sind mit GOTTSCHALK (1954) zwei Möglichkeiten zu diskutieren: Entweder der Weg über die Autopolyploidisierung; dann haben die ursprünglich homologen Chromosomen in der phylogenetischen Entwicklung strukturelle Veränderungen erfahren, die zum sukzessiven Verlust der Homologie geführt haben. In diesem Sinne wäre der Ausdruck „sekundär ausgeglichene Polyploide“ zu verstehen und berechtigt. Oder aber der Weg über einen amphidiploiden Bastard, also über Allopolyploidisierung. Er hat die größere Wahrscheinlichkeit für sich, denn die Chromosomensätze der Ausgangsformen unterscheiden sich dann von vorn herein in ihren Struktur. Die nur schwachen Homologien zwischen einzelnen Chromosomenpaaren vermochten im Zeitpunkt der Polyploidisierung keine stärkeren Störungen der Chromosomenverteilung hervorzurufen, die eine verringerte Vitalität oder Letalität zur Folge gehabt hätten; sie reichten nur aus zu einer lockeren Assoziation einzelner Bivalente.

Der Homologie einzelner Chromosomenpaare müßte eine morphologische Übereinstimmung entsprechen. Dazu wäre eine Analyse der Pachytänchromosomen von *L. usitatissimum* und der verwandten Wildart *L. angustifolium*, der mutmaßlichen Stammform (SCHILLING 1944), erforderlich. Die Analyse stößt aber aus methodischen Gründen auf erhebliche Schwierigkeiten. Idiogramme der somatischen Chromosomen haben für diese Fragestellung keinen Wert.

Da *L. usitatissimum* nur 1 Nucleolenchromosom pro Satz hat, muß als Basiszahl 8 angenommen werden und es erhebt sich die Frage nach dem notwendig vorhanden gewesenen 2. Nucleolenchromosom. Es ist in mitotischen Metaphasen nach guter Fixierung leicht zu erkennen an dem großen Satelliten, der durch einen langen euchromatischen Abschnitt mit dem Chromosom verbunden ist (Abb. 12). Dieser große Satellit gab wahrscheinlich mehrfach Anlaß zu falscher Bestimmung der Chromosomenzahl ($2n = 30$ und 32 , MARTZENITZINA 1927, EMME und SCHEPELJEW 1927), eine Vermutung, die auch MASIMA (1947) hegt. Bei Gentianaviolett färbung kann der Satellit leicht als besonderes Chromosom angesehen werden, weil dabei das Verbindungsstück zwischen Satellit und Chromosom nicht gefärbt wird. Dazu kommt, daß bei manchen Fixierungen das Zwischenstück schrumpft; dann ist der Einschnitt zwischen Satellit und Chromosom nicht mehr zu erkennen. Je nachdem wird dann die Chromosomenzahl einmal mit 32, einmal mit 30 bestimmt. In den Chromosomenbildern der Gattung *Linum*, die von RAY (1944) gegeben werden, sind in keinem Fall die typischen großen Satelliten zu erkennen, obwohl sie nach eigenen Untersuchungen (unveröffentl.) bei den Arten mit $n = 8$ und 9 und bei vielen mit $n = 15$ zu finden sind. Auch in der Meiosis ist das Nucleolenchromosom als einziges von allen stets leicht zu identifizieren (Abb. 4 und 11). Bei dem Polyploidisierungsschritt, der zur Gruppe mit 15 Chromosomen geführt hat, ist das SAT-Chromosom eines Satzes verloren gegangen. Möglicherweise waren die SAT-Chromosomen beider Sätze weitgehend homolog,

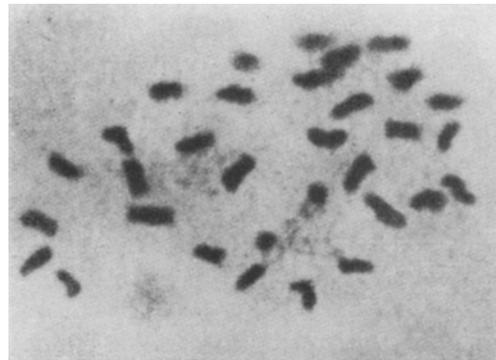


Abb. 12. Metaphaseplatte aus der Wurzelspitze von *L. usitatissimum* mit 2 Nucleolenchromosomen. $3300 \times$

so stark, daß es zu echter Quadrivalentbildung bis in die Metaphase hinein kam. Längere Chromosomen neigen an sich nach v. WETTSTEIN und STRAUB (1942) mehr zu Quadrivalentbildung als kürzere. Dadurch kann es zu ungleichmäßiger Verteilung auf die Tochterzellen gekommen sein. Der Selektionswert der Formen mit nur einem Nucleolenchromosom muß schließlich größer gewesen sein als der mit zwei oder drei. Zur Klärung dieser Frage kann die Untersuchung künstlich polyploid gemachter *Linum*-Arten mit $n = 8$ Chromosomen beitragen.

Zusammenfassung

1. *Linum usitatissimum* ist eine sekundäre Polyploide. Im Pachytän assoziieren sich einzelne Bivalente locker zu einem oder mehreren Quadrivalenten.

2. Die Assoziation löst sich beim Übergang vom Diplotän zur Diakinese gewöhnlich auf. Nur nach Partnerwechsel bleiben die Quadrivalente in der Diakinese noch durch Brücken verbunden. Auch diese Bindungen werden vor der Metaphase aufgelöst, so daß die Chromosomenverteilung in der Anaphase ungestört verläuft.

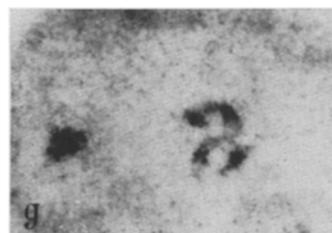
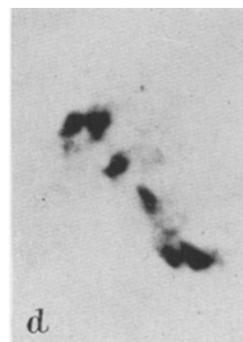
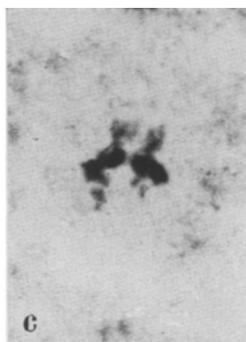
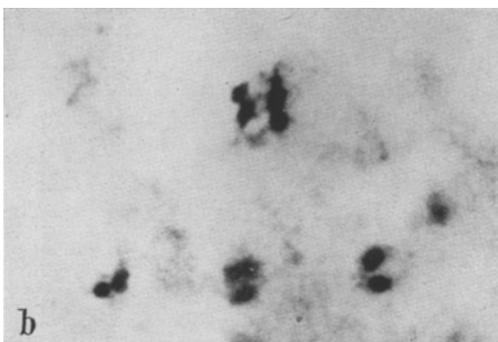
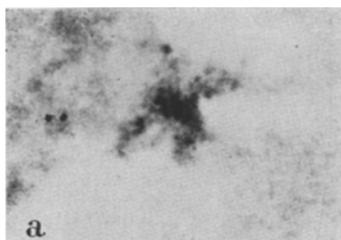
3. Eine secondary association in der Prometa- und Metaphase konnte nicht nachgewiesen werden.

4. Als Basiszahl für *L. usitatissimum* ist 8 anzunehmen. Dem Chromosomensatz fehlt das zweite Nucleolenchromosom. Der Verlust trat vermutlich unmittelbar im Zusammenhang mit dem Polyploidisierungsschritt ein.

Agr. Forest. 10, 89—106 (1938). — 7. LAWRENCE, W. I. C.: Secondary association of chromosomes. *Cytologia* 2, 352—384 (1931). — 8. NEVES, I. DE BARROS: Über die somatische Paarung bei *Ornithogalum Zeyheri* Baker (port.). *Bol. Soc. Broteriana*, Ser. 2, 27, 203—216 (1953). — 9. MARTZENITZINA, K. K.: The chromosomes of some species of the genus *Linum* L. *Bull. Appl. Bot.*, Leningrad 17, 273—288 (1927). — 10. MASIMA, I.: The number of chromosomes and the nucleolar chromosomes in *Linum usitatissimum* and some allied species. *Jap. J. Gen. Suppl.* 1, 122—131 (1947). — 11. RAY, CH.: Cytological studies on the flax genus, *Linum*. *Amer. J. Bot.* 31, 241—248 (1944). — 12. REESE, G.: Euploidie, Aneuploidie und B-Chromosomen bei *Caltha palustris* L. *Planta* 44, 203—268 (1954). — 13. RICHHARIA, R. H. u. W. I. KALAMKAR: Chromosomenzahl in indischer Leinfaat. *Ind. J. Agr. sci.* 9, Tl. 3, 561—568 (1939). — 14. SCHILLING, E.: Lein, *Linum usitatissimum* L.

Abb. 13. Mikrophotographische Belege zu den Abbildungen.

- a) zu Abb. 2, Phako, 2700 ×
- b) zu Abb. 5, Phako, 2700 ×
- c) zu Abb. 6, Phako, 3000 ×
- d) zu Abb. 7, 3000 ×
- e) zu Abb. 8, 3000 ×
- f) zu Abb. 9, Phako, 3000 ×
- g) zu Abb. 10, 2700 ×.



Literatur

1. BOLLE, L. u. J. STRAUB: Die Paarungskräfte im Hetero- und Euchromatin von tetraploider *Impatiens Balsamina*. *Planta* 32, 482—492 (1952). — 2. DARLINGTON, C.: The behaviour of polyploids. *Nature* 119, 390 bis 392 (1927). — 3. DARLINGTON, C. u. JANAKI: Chromosome atlas of cultivated plants (1945). — 4. EMME, H. u. H. SCHEPELJEW: Versuch einer caryologischen Artanalyse von *Linum usitatissimum* L. *Bull. Appl. Bot.*, Leningrad 17, 265—272 (1927). — 5. GOTTSCHALK, W.: Die Grundzahl der Gattung *Solanum* und einiger *Nicotiana*-Arten. *Ber. dtsh. Bot. Ges.* 67, 369—376 (1954). — 6. INOUE, T.: Meiosis in *Linum*. *Bull. Miyazaki Coll.*

Handb. Pflanzenzüchtg. 341—405 (1944). — 15. SIMONET, M.: Étude cytologique de *Linum usitatissimum* L. et de *Linum angustifolium* HUDS. *Arch. Anat. Microsc.* 25, 376—381 (1929). — 16. STRAUB, J.: Chromosomenuntersuchungen an polyploiden Blütenpflanzen. *Ber. dtsh. Bot. Ges.* 57, 531—544 (1939). — 17. TISCHLER, G.: Handb. Pflanzenanat. II, Allg. Pflanzencaryologie. 2. Hälfte: Kernteilung und Kernverschmelzung 455 (1951). — 18. v. WETTSTEIN, F. u. J. STRAUB: Experimentelle Untersuchungen zum Artbildungsproblem. III. Weitere Beobachtungen an polyploiden *Bryum*-Sippen. *Zeitschr. f. ind. Vererbgs.* 80, 271—280 (1942).

Berichtigung!

In der Arbeit von G. BANDLOW „Die Genetik der *Beta vulgaris*-Rüpen“ (Sammelreferat) muß es in Heft 4/5 auf Seite 116, linke Spalte, 13. Zeile von unten nicht

„50 einzelfrüchtige selbstfertile Mutanten“ sondern

„5 einzelfrüchtige selbstfertile Mutanten“ heißen.